

DOI: 10.7524/j.issn.0254-6108.2017.05.2016091202

张俊杰, 韦燕莉, 李慧珍, 等. 水体中新烟碱类杀虫剂的固相萃取方法优化: 响应曲面法[J]. 环境化学, 2017, 36(5): 1064-1071.

ZHANG Junjie, WEI Yanli, LI Huizhen, et al. Optimizing solid phase extraction method for neonicotinoids in water: Application of response surface methodology[J]. Environmental Chemistry, 2017, 36(5): 1064-1071.

水体中新烟碱类杀虫剂的固相萃取方法优化: 响应曲面法^{*}

张俊杰¹ 韦燕莉² 李慧珍¹ 游 静^{1**}

(1. 暨南大学环境学院, 广东省环境污染与健康重点实验室和广州市环境暴露与健康重点实验室, 广州, 510632;

2. 中国科学院广州地球化学研究所, 有机地球化学国家重点实验室, 广州, 510640)

摘 要 建立了一种固相萃取 (SPE) 前处理, 高效液相色谱/质谱联用分析 (HPLC/MS) 测定水体中痕量新烟碱类杀虫剂 (啉虫脒、噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫啉和噻虫嗪) 含量的方法. 确立 HPLC/MS 分析方法, 并采用响应曲面法中 Box-Behnken 实验设计优化了 SPE 的吸附剂类型和用量、洗脱液类型和用量, 获得以 100 mg HLB 为吸附剂及 10 mL 甲醇为洗脱液的前处理方法. 所建方法适用于分析水中较宽浓度范围 (3 个数量级: 0.9—100 ng·mL⁻¹) 的新烟碱类杀虫剂, 回收率范围为 75.4%±0.98%—122%±1.7%. 此外, 目标物的方法检测限均低于 3 ng·L⁻¹, 相对标准偏差范围为 2.99%—7.92%, 低于文献值, 说明所建方法具有较好的灵敏度和精密度. 最后, 该方法成功用于分析野外采集的水样, 验证了该方法分析环境水体中新烟碱类杀虫剂的适用性.

关键词 新烟碱类杀虫剂, 固相萃取, 水体, 响应曲面法, 方法优化.

Optimizing solid phase extraction method for neonicotinoids in water : Application of response surface methodology

ZHANG Junjie¹ WEI Yanli² LI Huizhen¹ YOU Jing^{1**}

(1. School of Environment, Guangzhou Key Laboratory of Environmental Exposure and Health and Guangdong Key Laboratory of Environmental Pollution and Health, Jinan University, Guangzhou, 510632, China; 2. State Key Laboratory of Organic Geochemistry, Guangzhou Institute of Geochemistry, Chinese Academy of Sciences, Guangzhou, 510640, China)

Abstract: An method has been established for determining trace neonicotinoid insecticides (acetamiprid, clothianidin, dinotefuran, imidacloprid, thiacloprid and thiamethoxa) in water using high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC/MS) after sample preparation with solid phase extraction (SPE). After setting up HPLC-MS method, response surface methodology (Box-Behnken design) was applied to select the type and mass of sorbents and the type and volume of elution solution for SPE. The optimized SPE method used 100 mg HLB as the sorbent and 10 mL methanol as the elution solvent. The newly developed method was validated by analyzing target insecticides in water in a wide range of concentrations (up to three multitudes: 0.9 ng·L⁻¹—100 ng·mL⁻¹), and the recovery of analytes ranged from (75.4±0.98)% to (122±1.7)%. The method detection limits for all neonicotinoids were less than 3 ng·L⁻¹ with the relative standard deviations from 2.99% to 7.92%. The values were lower than those in previous studies, indicating

2016 年 9 月 21 日收稿 (Received: September 21, 2016).

^{*} 中国博士后科学基金 (2015M582431), 国家自然科学基金 (41503091, 41473106) 和广东省自然科学基金 (2015A030310219, 2016A030312009) 资助.

Supported by China Postdoctoral Science Foundation (2015M582431), the National Science Foundation of China (41503091, 41473106) and the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2015A030310219, 2016A030312009).

^{**} 通讯联系人, E-mail: youjing@jnu.edu.cn

Corresponding author, E-mail: youjing@jnu.edu.cn

good sensitivity and precision of the established method. Eventually, the method was successfully applied to determine neonicotinoids in field water samples, validating the effectiveness of the newly developed method in the environment.

Keywords: neonicotinoid insecticides, solid phase extraction, water, response surface methodology, method optimization.

新烟碱类杀虫剂 (Neonicotinoid insecticides) 是一类新兴的高效植物源杀虫剂, 对同翅目类等害虫具有良好的防治作用。该类杀虫剂自上世纪 80 年代商品化以来, 发展迅速, 近年已占据杀虫剂市场约四分之一的份额^[1]。因为其具有内吸性及高水溶性等特点, 新烟碱类对蜜蜂、蝴蝶等传粉生物^[2-4] 及水生非靶标生物^[5-7] 具有高危害性。

新烟碱类杀虫剂可通过降雨、地表径流等进入水环境, 导致水体污染。Starner 和 Goh^[8] 调查了美国加州水体中该类杀虫剂的污染状况, 发现 89% 的样品可检出吡虫啉, 最高浓度达到 $3.29 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, 其中 19% 的样品中吡虫啉浓度超过美国环境保护署 (USEPA) 规定的水生生物长期暴露的浓度阈值 ($1.05 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$)。Morrissey 等^[9] 发现水体中新烟碱类杀虫剂在较低浓度时 ($< 1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (急性毒性) 和 $0.1 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (慢性毒性)), 就可能对水生动物的存活、生长、羽化、致死和行为产生不良效应, 而为避免该类杀虫剂对水生生物种群产生不良影响, 水中新烟碱类的浓度应低于 $0.2 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (短期暴露) 和 $0.035 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ (长期暴露)。这些研究表明, 暴露于低浓度的新烟碱类杀虫剂, 水生生物就可能出现毒性效应。在中国新烟碱类杀虫剂也被广泛使用^[1], 但其在环境水体中的浓度水平尚无报道。因此, 为了有效评价该类杀虫剂对水生系统的潜在风险, 有必要建立水体中痕量新烟碱类杀虫剂的分析方法。

水体中新烟碱类杀虫剂的检测主要采用高效液相色谱 (HPLC), 而前处理主要为固相萃取 (Solid phase extraction, SPE), 吸附剂一般为 HLB^[10-11] 和 C18^[12-13], 方法检出限从几到几十 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。例如, Hladik 和 Calhoun^[14] 建立了以 HLB 为吸附剂分析水样中 6 种新烟碱类杀虫剂的 SPE 方法, 检出限范围为 $3.6\text{--}6.2 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 。多污染共存的情况下, 低浓度水平下的新烟碱类杀虫剂暴露就可能对水生生物造成危害^[9], 因此有必要对现有方法进一步优化, 提高灵敏度和精密度。响应曲面法是一种广泛使用的优化方法, 具有实验次数少、预测性好和精密度高等特点^[15], 目前已在多个领域, 如工业^[16]、农业^[17]、食品^[18] 及化学^[19] 等用于方法优化。

为了准确可靠地测定水体中痕量新烟碱类杀虫剂的污染水平, 本文以高效液相色谱/质谱联用 (HPLC/MS) 为分析手段, 采用响应曲面法中的 Box-Behnken 设计 (BBD) 优化水体中痕量新烟碱类杀虫剂 (啉虫脒、噻虫胺、呋虫胺、吡虫啉、噻虫啉和噻虫嗪) 的前处理条件, 并在不同浓度下对获得的最优化方法进行验证, 最后将新建方法用于测定野外水体样品中新烟碱类杀虫剂的含量。

1 实验部分 (Experimental section)

1.1 主要仪器和试剂

仪器: 全自动氮吹浓缩仪 (上海新拓)、SPE 萃取装置 (上海安谱)、氮气吹扫仪 (上海净信)、HPLC/MS (其中, HPLC 为日本岛津, MS 为美国 AB SCIEX)。

试剂与材料: 甲醇、乙腈为 HPLC 级, 购买于 Oceanpak (瑞典欧森巴克化学公司), 丙酮 (分析纯) 经过重蒸后使用, HLB、C18 和 GCB 吸附剂购买于天津博纳艾杰尔公司, 甲酸为 LC/MS 级 (98.0%; 上海安谱)。

标准品: 啉虫脒、吡虫啉、噻虫啉和噻虫嗪标准品购买于上海市农药研究所, 噻虫胺和呋虫胺从德国 Dr. Ehrenstrofer GmbH 公司购得, 回收率指示物 (啉虫脒- d_3 和噻虫胺- d_3) 和内标化合物 (吡虫啉- d_4 和噻虫嗪- d_3) 均购买于 CDN Isotopes 公司 (加拿大魁北克)。

1.2 分析方法优化

预实验显示 HLB 对新烟碱类杀虫剂的吸附能力显著优于 C18, 因此在 SPE 的优化实验中选取吸附剂类型 (HLB、1:1 HLB:GCB (W:W) 和 GCB)、吸附剂用量 (100、300、500 mg)、洗脱液类型 (甲醇、丙酮和乙腈) 及洗脱液用量 (2、6、10 mL) 为主要影响因素, 依据 BBD 模型采用四因素三水平设计了 29 组实验

(表 1).

按照 BBD 设计所需吸附剂类型和用量自行填装 SPE 柱.依次用 3 mL 甲醇和 10 mL 水清洗 SPE 柱后,将配制好的水样(20 mL)加载到柱中.除了目标杀虫剂之外,啉虫脒-d₃和噻虫胺-d₃也被加入水样中作为回收率指示物,水样中目标化合物和回收率指示物的浓度均为 2.5 μg·L⁻¹.待水样完全加载之后,依据实验设计所对应的溶剂进行洗脱,收集洗脱液并用氮吹仪浓缩并置换溶剂为乙腈,使用 0.22 μm 的尼龙滤膜过滤,浓缩后加入 20 μL 5 mg·L⁻¹内标(吡虫啉-d₄和噻虫嗪-d₃)定容至 0.5 mL,待仪器分析.内标法进行定量分析时,吡虫啉-d₄用于啉虫脒、啉虫脒-d₃、吡虫啉和噻虫啉的内标,而噻虫嗪-d₄被用于噻虫胺、噻虫胺-d₃、呋虫胺和噻虫嗪的内标.每组实验设置 3 个平行样.

表 1 BBD 实验设计中因素与水平

变量 Variable	水平与编码 Level and code		
	-1	0	+1
吸附剂类型 Sorbent type	HLB	HLB:GCB (1:1)	GCB
吸附剂质量 Sorbent mass /mg	100	300	500
洗脱液类型 Eluent type	甲醇	丙酮	乙腈
洗脱液体积 Eluent volume /mL	2	6	10

1.3 方法验证

水中化合物浓度影响:为验证分析方法对不同浓度水样的适用性,结合可能环境浓度设置 4 个浓度水平,包括 0.03、1.0、20、100 μg·L⁻¹,采用优化后的条件进行分析验证,每个浓度设置 3 个平行样.

方法检测限(MDL):使用优化后的方法分析加标浓度为 10 ng·L⁻¹水样,同时测试 7 个平行样.计算该分析方法所得各目标化合物的标准偏差(SD),并通过公式 $MDL = t_{(n-1, 1-\alpha = 0.99)} \times SD$ 计算 MDL 值.

野外样品验证:在广州市天河区车陂涌采集 3 个水样,4 ℃下保存,并在一周内完成分析.环境水样经 0.7 μm 孔径 GF/F 膜过滤后,使用优化后方法分析.

1.4 仪器分析

样品中新烟碱类杀虫剂的浓度使用 HPLC/MS 进行测定,具体条件如下.化合物通过 Agilent Zorbax Eclipse Plus C18 柱(100 mm × 2.1 mm i.d., 1.8 μm)分离,柱温为 40 ℃;流动相为含 0.1%甲酸的超纯水(A)和乙腈(B)的混合溶液;流速为 300 μL·min⁻¹.梯度洗脱条件:0—1.2 min, 63% A;1.2—3 min, 30% A,保留 2 min;5—5.1 min, 63% A,保留 2.9 min.样品进样量为 5 μL.

质谱检测在电喷雾电离(ESI)方式、正离子模式和多反应监测模式(MRM)下进行,具体质谱条件如下:离子源温度:550 ℃,气帘气(Curtain Gas,CUR):40 psi;碰撞气(Collision Gas,CAD):7 psi;喷雾电压(IonSpray Voltage,IS):5500 V;雾化气(Ion Source Gas1,GS1):55 psi;辅助气(Ion Source Gas2,GS2):55 psi.使用含 1 mg·L⁻¹待测化合物(6 种新烟碱杀虫剂及 4 种回收率指示物和内标)的标准溶液对质谱条件进行优化.

2 结果与讨论(Results and discussion)

2.1 质谱条件优化

实验选择目前常用的 6 种新烟碱类杀虫剂为目标化合物.选择 ESI 模式,标准溶液通过流动注射的方式直接进入质谱,在 MRM 模式下对目标化合物分别进行一级质谱分析(Q1 扫描),得到分子离子峰,再对其进行二次质谱分析(Q3 扫描),选取离子丰度最高的离子为定量离子,另取 2 个响应较高的离子作为定性离子对.在此基础上,优化对仪器灵敏度影响较大的碎裂电压和碰撞能量,使选取的母离子和子离子的响应达到最佳,最终优化的质谱参数见表 2.

表 2 目标化合物的质谱检测参数

Table 2 Mass spectrometry parameters for the target analytes

杀虫剂 Insecticide	保留时间 Retention time/min	母离子 Parent ion (m/z)	子离子 Product ion (m/z)	解簇电压 Declustering potential /V	碰撞能 Collision energy/eV
啉虫脒 Acetamiprid	1.61	223.3	126.0, 98.90	130, 130	25.0, 48.0
啉虫脒-d ₃ Acetamiprid-d ₃	1.60	226.3	126.0, 89.90	130, 130	26.0, 44.0
噻虫胺 Clothianidin	1.41	250.0	169.0, 131.9	80.0, 80.0	16.0, 20.0
噻虫胺-d ₃ Clothianidin-d ₃	1.40	253.2	172.1, 126.0	130, 130	16.0, 24.0
呋虫胺 Dinotefuran	0.98	203.3	129.1, 114.0	120, 120	17.0, 17.0
吡虫啉 Imidacloprid	1.52	256.2	209.0, 175.0	60.0, 60.0	21.0, 26.0
吡虫啉-d ₄ Imidacloprid-d ₄	1.51	260.3	213.1, 179.1	130, 130	16.0, 24.0
噻虫啉 Thiacloprid	2.08	253.0	126.0, 186.0	130, 130	28.0, 18.0
噻虫嗪 Thiamethoxam	1.21	292.2	211.1, 132.0	130, 130	15.0, 26.0
噻虫嗪-d ₃ Thiamethoxam-d ₃	1.20	295.2	214.0, 132.1	130, 130	15.1, 25.0

2.2 最优 SPE 参数的选择

为了考察 SPE 优化中各因素及因素间交互作用对化合物回收率的影响,依据 BBD 设计的实验结果,使用软件 Statistic 8.0 进行作图,得到任意两个因素交互作用的结果.目标化合物较多,且其数据分析和作图方法相似,故而仅以噻虫啉为例讨论不同因素交互作用对其回收率的影响(图 1).

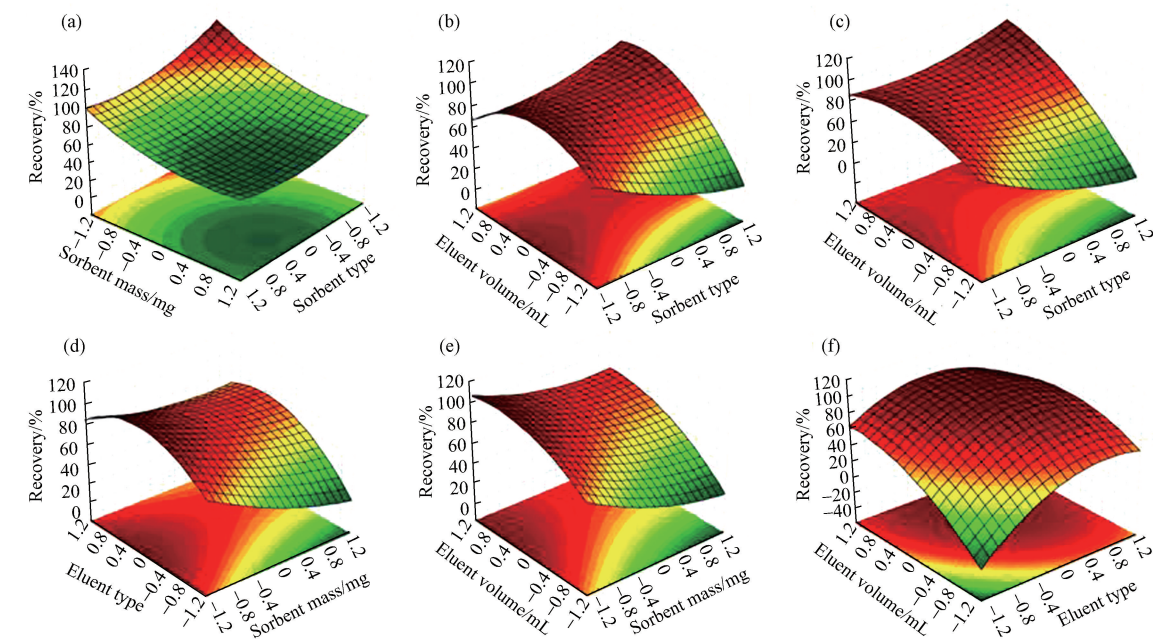


图 1 吸附剂类型和用量以及洗脱液类型和体积对噻虫啉回收率的响应曲面图

(a.洗脱液为 6 mL 丙酮;b.吸附剂质量为 300 mg、洗脱液用量为 6 mL;c.吸附剂质量为 300 mg、洗脱液为丙酮;d.吸附剂为 HLB: GCB(W:W,1:1)、洗脱液用量为 6 mL;e.吸附剂为 HLB:GCB(W:W,1:1)、洗脱液为丙酮;f.吸附剂为 300 mg HLB:GCB(W:W,1:1))

Fig.1 Response surface plots for the selection of the type and mass of sorbent and the type and volume of elution solution on the recovery of thiacloprid from water samples

(a. The eluent solution was set as 6 mL of acetone;b. The sorbent mass was 300 mg and the volume of the eluent solution was 6 mL; c. The sorbent mass was 300 mg and the eluent type was acetone; d. The sorbent type was HLB : GCB (W:W, 1 :1) and the volume of the eluent solution was 6 mL; e. The sorbent was HLB : GCB (W:W, 1 :1) and the eluent solution was acetone; f. The sorbent mass was 300 mg and sorbent was HLB : GCB (W:W, 1 :1)).

图 1 代表当优化条件中两个因素固定在其中间水平时,其余两个因素的交互作用对化合物回收率的影响.从图 1(a)可见,噻虫啉的回收率随吸附剂用量的增加而降低;从图 1(b)和(d)可见,丙酮作为

洗脱液的效果略好于其它两种溶剂,但是不同洗脱液对回收率的影响并无显著差异;图 1(c)显示,洗脱液用量较少时,单纯使用 HLB 吸附剂,噻虫啉的回收率显著高于 GCB 吸附剂;而当洗脱液用量较大时,无论用 GCB 或 HLB 为 SPE 吸附剂,噻虫啉的回收率均大于 80%,且无明显差异;从图 1(e)和(f)可知,当吸附剂用量或洗脱液类型一定时,化合物的回收率随着洗脱液用量的增加而升高,反之,当洗脱液用量一定时,回收率与吸附剂用量呈反比.对噻虫啉的响应值进行二次非线性模型拟合分析,可得到水体中噻虫啉的最优 SPE 方法,即 100 mg HLB 为吸附相,7.0 mL 丙酮为洗脱液.与噻虫啉的数据处理方法类似,依据其余化合物的 BBD 实验结果逐个进行分析,可获得各化合物的最优 SPE 条件(表 3).

表 3 不同化合物的响应曲面法优化的固相萃取条件

Table 3 Optimized conditions for solid phase extraction by response surface methodology for individual neonicotinoid					
杀虫剂 Insecticide	吸附剂类型 Sorbent type	吸附剂用量 Sorbent mass/mg	洗脱液类型 Eluent type	洗脱液用量 Eluent volume/mL	预测回收率 Recovery/%
啉虫脒 Acetamiprid	100% HLB	100	乙腈	10	122
噻虫胺 Clothianidin	100% HLB	100	丙酮	9.0	126
呋虫胺 Dinotefuran	100% HLB	100	甲醇	10	75.7
吡虫啉 Imidacloprid	100% HLB	100	甲醇	10	135
噻虫啉 Thiacloprid	100% HLB	100	丙酮	7.0	121
噻虫嗪 Thiamethoxam	100% HLB	100	丙酮	9.0	115

如表 3 所示,100 mg HLB 适用于所有目标化合物,不过最优化淋洗条件对各个化合物略有不同.从方法优化的实验结果可知,甲醇和丙酮分别对两个(呋虫胺和吡虫啉)和 3 个化合物(噻虫胺、噻虫啉和噻虫嗪)有最好的优化效果.其中,丙酮对除了呋虫胺之外的其他新烟碱类杀虫剂具有较好的回收率,此条件下其余杀虫剂的模拟回收率范围为 80%—110%,而甲醇作为洗脱溶剂时,各个新烟碱类性杀虫剂的模拟回收范围为 72.4%—135%.从结果来看,丙酮和甲醇作为洗脱液得到的新烟碱类杀虫剂的回收率结果相当.但是在所选 6 个目标杀虫剂中,呋虫胺的预测回收率最低,为了把环境中的各个新烟碱类杀虫剂检测出来,在选最优条件时选择呋虫胺回收率最佳的情况作为同时分析水体中多种新烟碱类杀虫剂的最优化 SPE 方法,即吸附剂为 100 mg HLB,洗脱液为 10 mL 甲醇.没有选择丙酮做洗脱剂是因为呋虫胺被使用于环境中,希望借着所优化的方法,除了可以检测到水体中的啉虫脒、噻虫胺、吡虫啉、噻虫啉和噻虫嗪的浓度水平外,还可以获得呋虫胺的环境浓度.此外,丙酮洗脱色素等杂质的能力比甲醇更强,而野外样品中,尤其是城市水体中含有较多色素等杂质,在两种洗脱剂对新烟碱杀虫剂都能达到较高回收率的情况下,减少杂质对污染物浓度水平的分析更有利.因此,综上所述,甲醇比丙酮更适合作为 SPE 方法分析水体中新烟碱类杀虫剂的洗脱溶剂.该方法相对于前期文献中报道的方法(500 mg HLB 或 C18 为吸附剂)^[10,12],所用的吸附剂量减少了 80%,既节约了成本,又在一定条件下减轻了环境负担.

2.3 方法验证

2.3.1 方法准确度

为了验证模型预测的目标化合物回收率的准确性,在最优化 SPE 条件下,以加标水溶液进行 3 次平行实验.实验结果表明,除了呋虫胺的回收率(47.0%±8.0%)低于预测回收率(75.7%),其他化合物回收率在 81.0%±8.9%和 92.8%±1.7%范围之间,与预测回收率接近,且其他杀虫剂回收率均超过 80%,符合水样分析测试的要求.呋虫胺的回收率较低可能由于它在水中的溶解度较高(39830 mg·L⁻¹)^[9].因此,该化合物亲水性强,HLB 吸附剂对其吸附能力相对其他化合物更弱,该化合物可能因为穿透 SPE 柱而损失.为了进一步验证新建方法对水体中不同浓度的新烟碱杀虫剂的适用性,在 4 个可能环境浓度水平(0.03、1.00、20.0、100 ng·mL⁻¹)分别进行分析,其回收率结果如图 2 所示.从图 2 可以看出,呋虫胺回收率很低,甚至在最高和最低浓度下均未能检测到,而不同浓度下其余化合物的回收率在75.4% ± 0.98%到 122%± 1.7%之间.在不同浓度加标的水样测试中,水样体积(500 mL)远高于方法优化时所用水样体积(20 mL).结果说明水样体积对其他新烟碱杀虫剂的回收率几乎无影响,但是水样体积的增大,可导致呋虫胺回收率显著降低,甚至无法检出,这也进一步说明由于该化合物水溶解度高^[9],当水样体积相对较大时,可能在以 HLB 作为吸附相的 SPE 柱发生穿透而严重损失.总而言之,新建的分析方法能适用于

不同浓度范围水体中多种新烟碱类杀虫剂检测,但是呋虫胺的测试有必要进一步考虑选择其他类型的吸附剂.因此在以下其他验证讨论中,呋虫胺不再进行进一步的讨论.

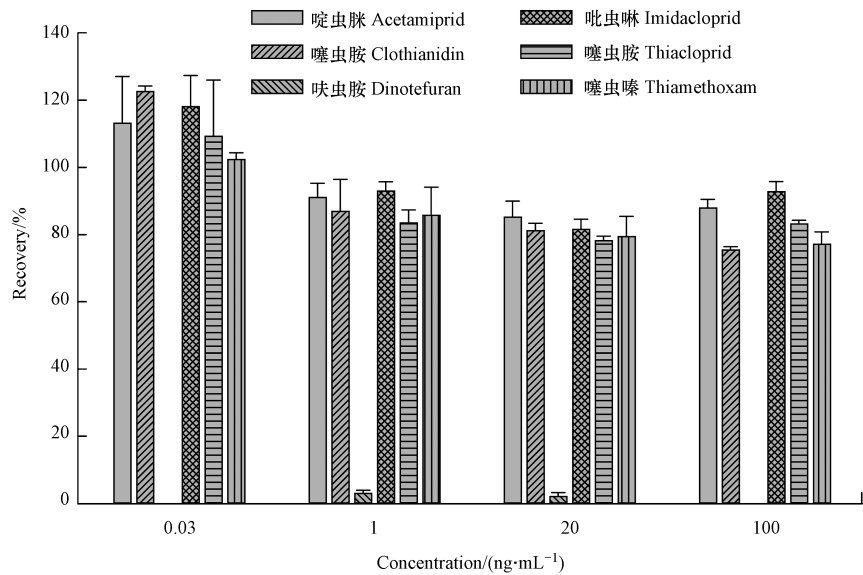


图2 不同加标浓度对水体中新烟碱杀虫剂回收率影响

Fig.2 Recovery of individual neonicotinoids in spiked water at different concentration

2.3.2 方法灵敏度及精密度

分析方法的灵敏度可用 MDL 进行评估.在最优 SPE 条件下,对化合物浓度为 10 ng·L⁻¹的水样进行分析,水样体积为 500 mL,测试包括 7 个平行样.表 4 列出了采用新建方法得到各化合物的 MDL 值和相对标准偏差(RSD).从表 4 中可见,5 个新烟碱类杀虫剂的 MDL 均低于 3.0 ng·L⁻¹,其中 4 个化合物在 1 ng·L⁻¹左右,RSD 值在 2.99%—7.92% 范围内.本实验所得到化合物的 MDL 均低于 Hladik 和 Calhoun^[14]所报道的最低 MDL 数值(3.6 ng·L⁻¹),说明本方法有更好的灵敏度,可实现相对更低浓度的水体中新烟碱类杀虫剂的含量测定.

表 4 低浓度下新烟碱类杀虫剂(10 ng·L⁻¹)的回收率、标准偏差(SD)、相对标准偏差(RSD)及方法检测限(MDL)

Table 4 Recoveries, standard deviation (SD), relative standard deviation (RSD) and method detection limit (MDL) of individual neonicotinoid in water (10 ng·L⁻¹)

杀虫剂 Insecticide	回收率 Recovery/%	标准偏差 SD/%	相对标准偏差 RSD/%	方法检测限 MDL/(ng·L ⁻¹)
啉虫脒 Acetamiprid	119	9.48	7.92	2.8
噻虫胺 Clothianidin	98.0	2.94	2.99	0.9
吡虫啉 Imidacloprid	115	4.46	3.90	1.3
噻虫啉 Thiacloprid	94.1	4.24	4.51	1.2
噻虫嗪 Thiamethoxam	95.4	4.53	4.75	1.2

2.4 实际样品检测

采用所优化方法分析了广州市所采集的 3 个水体样品中新烟碱类杀虫剂的含量,结果如表 5 所示.3 个水样中,除噻虫啉之外,其他化合物均有检出.其中,吡虫啉浓度最高,S3 样点达 101 ng·L⁻¹,啉虫脒次之,浓度范围为 17.5—24.3 ng·L⁻¹,噻虫胺和噻虫嗪的浓度显著低于吡虫啉和啉虫脒,其范围分别为 1.94—3.77 ng·L⁻¹和 2.69—3.08 ng·L⁻¹.

虽然在国内并无其他水体中新烟碱类杀虫剂污染水平的报道,本文检出水体中总新烟碱类浓度水平与美国乔治亚州^[14]的污染状况类似,但组成不同.在本研究中,发现了相对较高浓度的啉虫脒,而美国乔治亚州水体却没有检测到该种杀虫剂,这个结果与中国啉虫脒的高使用量相关.文献报道,啉虫脒是中国最常用的 3 种杀虫剂之一^[20],其在蜂蜜中也有检出,浓度可达 6 μg·kg⁻¹^[21].新烟碱类杀虫剂主

要应用于农业区中,包括植物的茎叶处理、种子处理及土壤处理.实验中所选 3 个采样点附近均没有蔬菜种植区或其它农业用地.然而,在样品采集河道的上游有蔬菜种植区,样品采集时在蔬菜地附近发现遗弃的新烟碱类杀虫剂(啉虫脒)的包装袋,说明该区域蔬菜种植过程中施用了此类杀虫剂.此外,这类杀虫剂在施用后有 80%以上积累到土壤中^[22],样品采集时正值雨季,亲水性的新烟碱类杀虫剂易于随着降雨、地表径流等迁移到河流中,导致在水中检出较高浓度水平的新烟碱类杀虫剂.总体而言,以上野外数据结果充分反映有必要在我国开展水环境中新烟碱类杀虫剂的污染状况和生态风险的研究.

表 5 野外水样中新烟碱类杀虫剂的浓度水平($\text{ng}\cdot\text{L}^{-1}$)
Table 5 Concentrations of neonicotinoids in field water samples

杀虫剂 Insecticide	S1	S2	S3
啉虫脒 Acetamiprid	17.5	24.3	23.3
噻虫胺 Clothianidin	1.94	2.19	3.77
吡虫啉 Imidacloprid	32.5	27.5	101
噻虫啉 Thiacloprid	ND	ND	ND
噻虫嗪 Thiamethoxam	2.88	3.08	2.69

注: ND 未检出 Not detected.

3 结论(Conclusion)

本文选择目前常用的新烟碱类杀虫剂为目标化合物,应用响应曲面法对 SPE 吸附剂类型和用量、洗脱液类型和用量进行优化,建立了使用 100 mg HLB 作为吸附相和 10 mL 甲醇作为洗脱液的水样 SPE 前处理方法.同时,结合 HPLC/MS 技术有效地分析了水体中痕量新烟碱杀虫剂含量.本文所建立的 SPE 方法吸附剂用量较少,目标化合物回收率高,相对早期方法具有更好的灵敏度和精密度.验证实验进一步说明该方法可在较宽浓度范围(3 个数量级:0.9—100 $\text{ng}\cdot\text{mL}^{-1}$)对水体中新烟碱杀虫剂进行测定,并成功用于野外环境水样的分析,发现吡虫啉和啉虫脒是最主要两类污染物.该方法的建立为准确评价新烟碱类杀虫剂在水环境中迁移转化行为和潜在风险提供了方法支撑.

参考文献(References)

[1] JESCHKE P, NAUEN R, SCHINDLER M, et al. Overview of the status and global strategy for neonicotinoids[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2011, 59: 2897-2908.

[2] GILLBURN AS, BUNNEFELD N, WILSON J M, et al. Are neonicotinoid insecticides driving declines of widespread butterflies? [J]. Peer J, 2015, 3: e1402.

[3] RUNDLOF M, ANDERSSON G K, BOMMARCO R, et al. Seed coating with a neonicotinoid insecticide negatively affects wild bees[J]. Nature, 2015, 521: 77-80.

[4] HALLMANN C A, FOPPEN R P, VAN TURNHOUT C A, et al. Declines in insectivorous birds are associated with high neonicotinoid concentrations[J]. Nature, 2014, 511: 341-343.

[5] AGATZ A, ASHAUER R, BROWN C D. Imidacloprid perturbs feeding of *Gammarus Pulex* at environmentally relevant concentrations[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2014, 33: 648-653.

[6] ROESSINK I, MERGA L B, ZWEERS H J, et al. The neonicotinoid imidacloprid shows high chronic toxicity to mayfly nymphs[J]. Environmental Toxicology and Chemistry, 2013, 32: 1096-1100.

[7] RIAZ M A, CHANDOR-PROUST A, DAUPHIN-VILLEMANT C, et al. Molecular mechanisms associated with increased tolerance to the neonicotinoid insecticide imidacloprid in the dengue vector *Aedes Aegypti*[J]. Aquatic Toxicology, 2013, 126: 326-337.

[8] STARNER K, GOH K S. Detections of the neonicotinoid insecticide imidacloprid in surface waters of three agricultural regions of California, USA, 2010-2011[J]. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2012, 88: 316-321.

[9] MORRISSEY C A, MINEAU P, DEVRIES J H, et al. Neonicotinoid contamination of global surface waters and associated risk to aquatic invertebrates: A review[J]. Environment International, 2015, 74: 291-303.

[10] MAIN A R, HEADLEY J V, PERU K M, et al. Widespread use and frequent detection of neonicotinoid insecticides in wetlands of Canada's Prairie Pothole Region[J]. PloS One, 2014, 9(3): e92821.

[11] YOKOYAMA S, ITO M, NAGASAWA S, et al. Runoff and degradation of aerially applied dinotefuran in paddy fields and river[J].

- Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology, 2015, 94: 796-800.
- [12] FUENTES E, CID C, BAEZ M E. Determination of imidacloprid in water samples via photochemically induced fluorescence and second-order multivariate calibration[J]. Talanta, 2015, 134: 8-15.
- [13] SANCHEZ-BAYO F, HYNE R V. Detection and analysis of neonicotinoids in river waters-development of a passive sampler for three commonly used insecticides[J]. Chemosphere, 2014, 99: 143-151.
- [14] HLADIK M L, CALHOUN D L. Analysis of the herbicide diuron, three diuron degradates, and six neonicotinoid insecticides in water-method details and application to two Georgia streams[R]: U.S. Geological, 2012.
- [15] BEZERRA M A, SANTELI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. Talanta, 2008, 76: 965-977.
- [16] YETILMEZSOY K, DEMIREL S, VANDERBEI R J. Response surface modeling of Pb(II) removal from aqueous solution by *Pistacia vera* L.: Box-Behnken experimental design[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 171: 551-562.
- [17] LI Y L, FANG Z X, YOU J. Application of Box-Behnken experimental design to optimize the extraction of insecticidal Cry1Ac from soil [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2013, 61: 1464-1470.
- [18] YIN G, DANG Y. Optimization of extraction technology of the Lycium barbarum polysaccharides by Box-Behnken statistical design[J]. Carbohydrate Polymers, 2008, 74: 603-610.
- [19] BEZERRA M A, SANTELI R E, OLIVEIRA E P, et al. Response surface methodology (RSM) as a tool for optimization in analytical chemistry[J]. Talanta, 2008, 76: 965-977.
- [20] JIN S, BLUEMLING B, MOL A P J. Information, trust and pesticide overuse: Interactions between retailers and cotton farmers in China [J]. NJAS-Wageningen Journal of Life Sciences, 2015, 72-73: 23-32.
- [21] 李菊颖,何健,吴文铸,等. 蜂蜜中 9 种杀虫剂的 UPLC-MS /MS 检测方法[J].环境化学, 2016, 35(9): 1921-1927.
LI J Y, HE J, WU W Z, et al. UPLC-MS /MS detection of 9 insecticides in honey[J].Environmental Chemistry, 2016, 35(9): 1921-1927(in Chinese).
- [22] SANCHEZ-BAYO F. The trouble with neonicotinoids[J]. Science, 2014, 346: 806-807.